

## Penentuan derajat deasetilasi pada kitosan dengan metode titrasi potensiometri



© BSN 2016

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN  
Email: [dokinfo@bsn.go.id](mailto:dokinfo@bsn.go.id)  
[www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)

Diterbitkan di Jakarta



## Daftar isi

Daftar isi .....	i
Prakata .....	ii
Pendahuluan .....	iii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi .....	1
4 Prinsip .....	1
5 Peralatan .....	2
6 Pereaksi .....	2
7 Preparasi contoh.....	2
8 Prosedur penentuan derajat deasetilasi .....	2
9 Perhitungan .....	3
10 Pelaporan .....	3
11 Keamanan dan keselamatan kerja .....	4
Lampiran A (normatif) Standardisasi larutan baku .....	5
Lampiran B (informatif) Gambar kurva titrasi.....	6
Lampiran C (informatif) Hasil verifikasi metode .....	7
Bibliografi .....	10



## Prakata

Dalam rangka memberikan jaminan mutu dan keamanan pangan terhadap komoditas produk perikanan yang akan dipasarkan di dalam dan luar negeri, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode uji penentuan derajat deastilasi pada kitosan dengan metode titrasi potensiometri.

SNI ini disusun oleh Komite Teknis 65-08: Produk Perikanan Nonpangan yang dirumuskan melalui rapat teknis dan rapat konsensus pada tanggal 27 – 28 Oktober 2015 di Jakarta, dihadiri oleh anggota Komite Teknis 65-08 Produk Perikanan Nonpangan, konsumen, asosiasi, lembaga penelitian, perguruan tinggi serta instansi terkait sebagai upaya untuk meningkatkan jaminan mutu dan keamanan pangan.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 17 November 2015 sampai dengan 15 Januari 2016 dengan hasil akhir RASNI.





## Pendahuluan

Berkaitan dengan penyusunan Standar Nasional Indonesia ini, maka aturan-aturan yang dijadikan dasar atau pedoman adalah:

1. Undang-Undang No.8 tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen
2. Undang-Undang Nomor 45 Tahun 2009 tentang Perubahan atas Undang-Undang Nomor 31 Tahun 2004 tentang Perikanan
3. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor PER.19/MEN/2010 tentang Pengendalian Sistem Manajemen Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan.
4. Peraturan Pemerintah Nomor 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan
5. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor PER.46/MEN/2014 tentang Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan yang Masuk ke dalam Wilayah Negara Republik Indonesia
6. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor 52A/KEPMEN-KP/2013 tentang Persyaratan Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan pada Proses Produksi, Pengolahan dan Distribusi





## Penentuan derajat deasetilasi pada kitosan dengan metode titrasi potensiometri

### 1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan cara penentuan derajat deasetilasi kitosan berdasarkan prinsip volumetri dengan metode titrasi potensiometri.

### 2 Acuan normatif

Dokumen berikut merupakan bagian tidak terpisahkan untuk penggunaan dokumen ini. Untuk acuan bertanggal, hanya edisi yang diacu digunakan. Untuk acuan tidak bertanggal, edisi terakhir dari dokumen acuan (termasuk amandemen) digunakan.

SNI 7949:2013, *Kitosan - Syarat mutu dan penanganan*.

### 3 Istilah dan definisi

#### 3.1

##### **derajat deasetilasi**

bilangan yang menunjukkan penurunan gugus asetil dari kitin menjadi gugus amina pada kitosan yang dinyatakan dalam persen (%)

#### 3.2

##### **volumetri**

metode pengujian secara kuantitatif yang didasarkan pada pengukuran volume

#### 3.3

##### **titrasi potensiometri**

metode titrasi yang didasarkan pada hubungan antara potensial dari suatu elektroda indikator yang sebanding dengan konsentrasi analit dalam suatu larutan dengan menggunakan potensiometer

#### 3.4

##### **potensiometer**

alat yang digunakan untuk mengukur nilai potensial ion-ion analit dalam suatu larutan

### 4 Prinsip

Penentuan derajat deasetilasi dilakukan berdasarkan reaksi netralisasi Asam Klorida (HCl) oleh Natrium Hidroksida (NaOH) dengan titik ekuivalen yang diukur berdasarkan nilai potensial ion-ion dalam larutan menggunakan potensiometer. Nilai derajat deasetilasi dihitung secara volumetri berdasarkan volume titran NaOH yang dibutuhkan untuk mencapai titik ekuivalen dalam kurva titrasi turunan pertama yang merupakan hubungan antara nilai pH yang terukur dengan volume titran NaOH.



## 5 Peralatan

- 1) Buret kepekaan 0,1 mL;
- 2) corong gelas;
- 3) desikator;
- 4) erlenmeyer 100 mL;
- 5) gelas *beaker* 100 mL, 250 mL;
- 6) gelas pengaduk;
- 7) *hot plate stirer*;
- 8) kertas timbang;
- 9) labu ukur 50 mL;
- 10) *magnetic stirer*;
- 11) mikropipet 10 mL;
- 12) oven;
- 13) pH meter;
- 14) pipet volumetrik 10 mL;
- 15) spatula;
- 16) statif dan klem;
- 17) timbangan analitik kepekaan 0,0001 g;
- 18) tip 10 mL.

## 6 Pereaksi

- 1) HCl 37%;
- 2) HCl 0,1 N;  
 Encerkan 8,33 mL HCl 37% dengan air deionisasi dan tepatkan hingga 1000 mL
- 3) NaOH 0,1 N;  
 Larutkan 4 g NaOH dengan air deionisasi dan tepatkan hingga 1000 mL
- 4) Asam oksalat 0,2 N;  
 Larutkan 1,26 g asam oksalat dengan air deionisasi dan tepatkan hingga 100 mL
- 5) Indikator phenolptalein.

## 7 Preparasi contoh

Penentuan derajat deasetilasi dapat dilakukan terhadap contoh yang telah dikeringkan sehingga bobotnya konstan dan bebas kadar air atau contoh yang belum dikeringkan. Persentase kadar air contoh diperlukan dalam perhitungan derajat deasetilasi. Penentuan kadar air dapat dilakukan dengan mengeringkan contoh sebanyak 2 g dalam oven pada suhu 100 °C -110 °C hingga diperoleh bobot konstan. Persentase kadar air diperoleh dari selisih antara berat bobot konstan terhadap bobot awal.

## 8 Prosedur penentuan derajat deasetilasi

- a) Contoh ditimbang sebanyak 0,125 g dan ditambahkan ke dalam 25 mL larutan HCl 0,1 N, lalu diaduk hingga larut menggunakan *magnetic stirer* selama 30 menit.
- b) Siapkan larutan baku sekunder NaOH yang telah distandardisasi (Lampiran A) ke dalam buret. Sebelumnya buret dibilas terlebih dahulu dengan larutan baku sekunder NaOH.
- c) Kalibrasi alat dan bilas elektroda dengan air deionisasi sebelum digunakan dalam pengukuran.
- d) Celupkan elektroda sel pH meter ke dalam larutan contoh.
- e) Lakukan titrasi terhadap larutan contoh dengan larutan titran NaOH.



- f) Lakukan titrasi awal dengan penambahan NaOH hingga mencapai nilai pH 2, lalu dilanjutkan dengan penambahan NaOH setiap 0,2 mL. Titrasi dapat dihentikan jika larutan mencapai nilai pH 6,5. Catat nilai pH pada setiap penambahan volume NaOH. Buatlah kurva titrasi hubungan antara pH analit dengan volume larutan baku NaOH (contoh Gambar 1), lalu buatlah kurva titrasi turunan pertamanya yaitu hubungan antara  $dpH/dV$  dengan  $dV$  NaOH (contoh Gambar 2).
- g) Tentukan volume NaOH yang dibutuhkan untuk mencapai titik ekuivalen dari kurva titrasi turunan pertama. Lakukan pengujian minimal tiga ulangan.

## 9 Perhitungan (Yuan et al. 2011)

$$NH_2 (\%) = \frac{(C_1 V_1 - C_2 V_2) \times 0,016}{G (100\% - W)} \times 100\%$$

$$DD (\%) = \frac{NH_2 (\%)}{9,94\%} \times 100\%$$

### Keterangan:

- $C_1$  adalah konsentrasi HCl dalam normalitas (N);  
 $V_1$  adalah volume larutan HCl (mL);  
 $C_2$  adalah konsentrasi NaOH dalam normalitas (N);  
 $V_2$  adalah volume NaOH (mL);  
0,016 adalah bobot molekul  $NH_2$  dalam 1 mL 0,1 N HCl (g);  
 $G$  adalah bobot contoh (g);  
 $W$  adalah persentase kadar air (%);  
 $DD$  adalah persentase derajat deasetilasi (%);  
9,94% adalah tetapan persentase  $NH_2$  secara teori.

**CATATAN** Jika penentuan derajat deasetilasi dilakukan terhadap contoh kering berbobot konstan yang telah bebas air, maka  $W$  adalah 0%.

## 10 Pelaporan

- a) Hasil perhitungan dinyatakan sebagai angka desimal dengan dua angka di belakang koma;  
Jika hasil perhitungan diperoleh angka desimal kurang dari 5 (lima) maka pembulatan ke bawah, tetapi jika lebih dari 5 (lima) pembulatan ke atas;

**CONTOH 1** 14,454 dibulatkan menjadi 14,45  
14,466 dibulatkan menjadi 14,47

- b) jika hasil perhitungan diperoleh angka desimal 5 (lima) yang akan dibulatkan dari angka genap yang ada di depannya, maka angka lima tersebut menjadi hilang. Tetapi, jika angka di depannya ganjil maka dilakukan pembulatan ke atas.

**CONTOH 2** 14,465 dibulatkan menjadi 14,46  
14,475 dibulatkan menjadi 14,48



## 11 Keamanan dan keselamatan kerja

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan kerja selama melakukan pengujian maka perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- a) Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan pengujian;
- b) gunakan sarung tangan, masker, sepatu, dan jas laboratorium selama bekerja.





**Lampiran A**  
(normatif)  
**Standardisasi larutan baku**

**Standardisasi larutan baku**

- a) Siapkan larutan baku primer asam oksalat 0,2 N ke dalam buret dengan menggunakan corong.
- b) Siapkan 10 mL larutan NaOH 0,1 N dalam erlenmeyer 50 mL, tambahkan 1-2 tetes (0,05 mL – 0,1 mL) indikator phenolptalein.
- c) Lakukan titrasi terhadap larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna dari merah jingga menjadi tidak berwarna.
- d) Tentukan volume larutan baku primer asam oksalat yang digunakan untuk standardisasi larutan baku sekunder NaOH, lakukan titrasi minimal *triplo* (tiga ulangan).
- e) Hitung normalitas larutan NaOH setelah distandardisasi dengan asam oksalat:

$$\text{Normalitas NaOH (N}_2\text{)} = \frac{N_1 \times V_1 (\text{asam oksalat})}{V_2 (\text{NaOH})}$$

**Keterangan :**

N<sub>1</sub> adalah normalitas asam oksalat (N);

V<sub>1</sub> adalah volume asam oksalat (mL) ;

N<sub>2</sub> adalah normalitas NaOH (N);

V<sub>2</sub> adalah volume NaOH (mL).

- f) Lakukan standardisasi larutan HCl 0,1 N menggunakan larutan NaOH yang sebelumnya telah distandardisasi menggunakan asam oksalat. Lakukan titrasi minimal tiga ulangan, lalu hitung normalitas larutan HCl yang telah distandardisasi :

$$\text{Normalitas HCl (N)} = \frac{N_1 \times V_1 (\text{NaOH})}{V_2 (\text{HCl})}$$

**Keterangan :**

N<sub>1</sub> adalah normalitas NaOH (N);

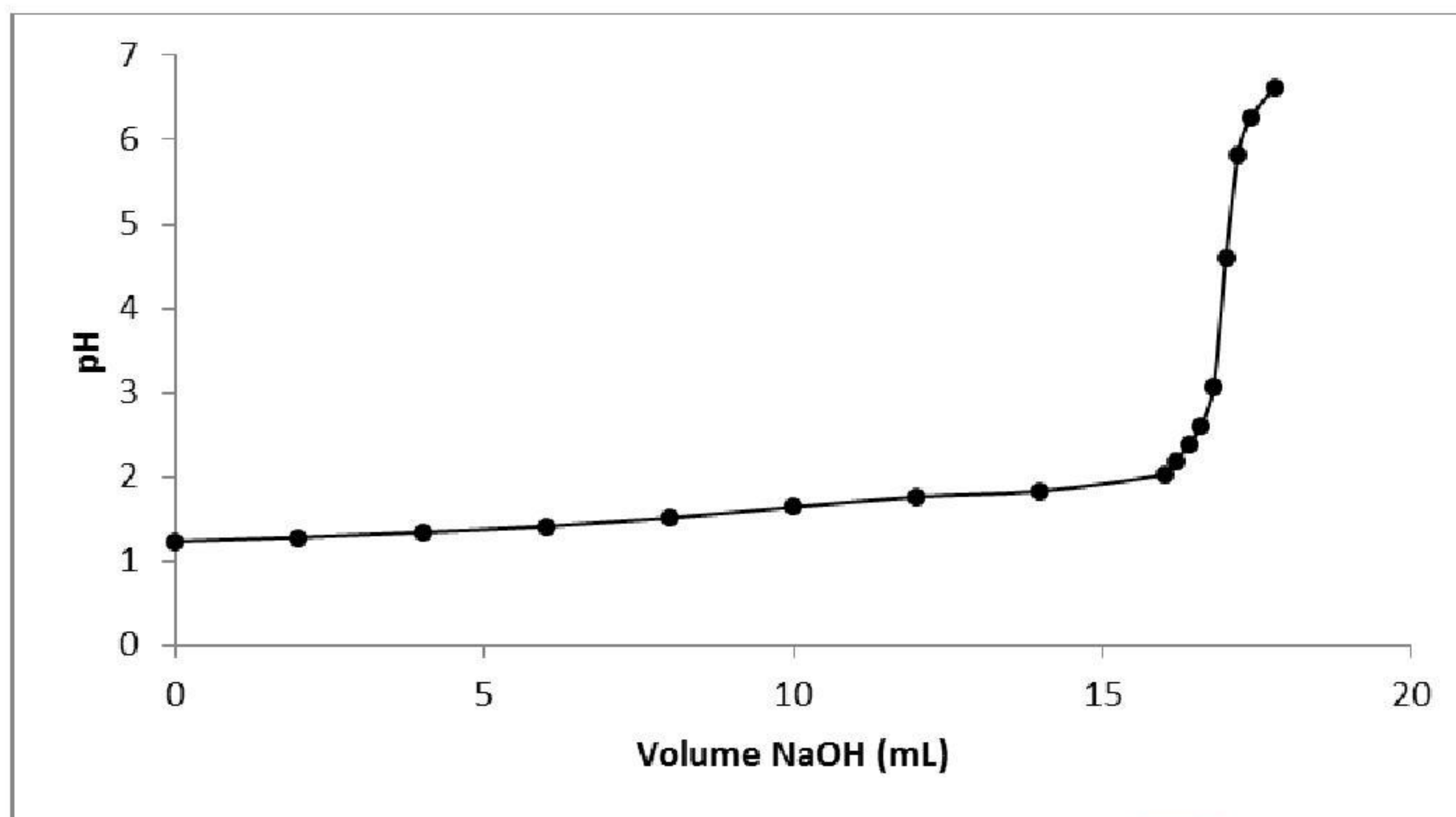
V<sub>1</sub> adalah volume NaOH (mL);

N<sub>2</sub> adalah normalitas HCl (N);

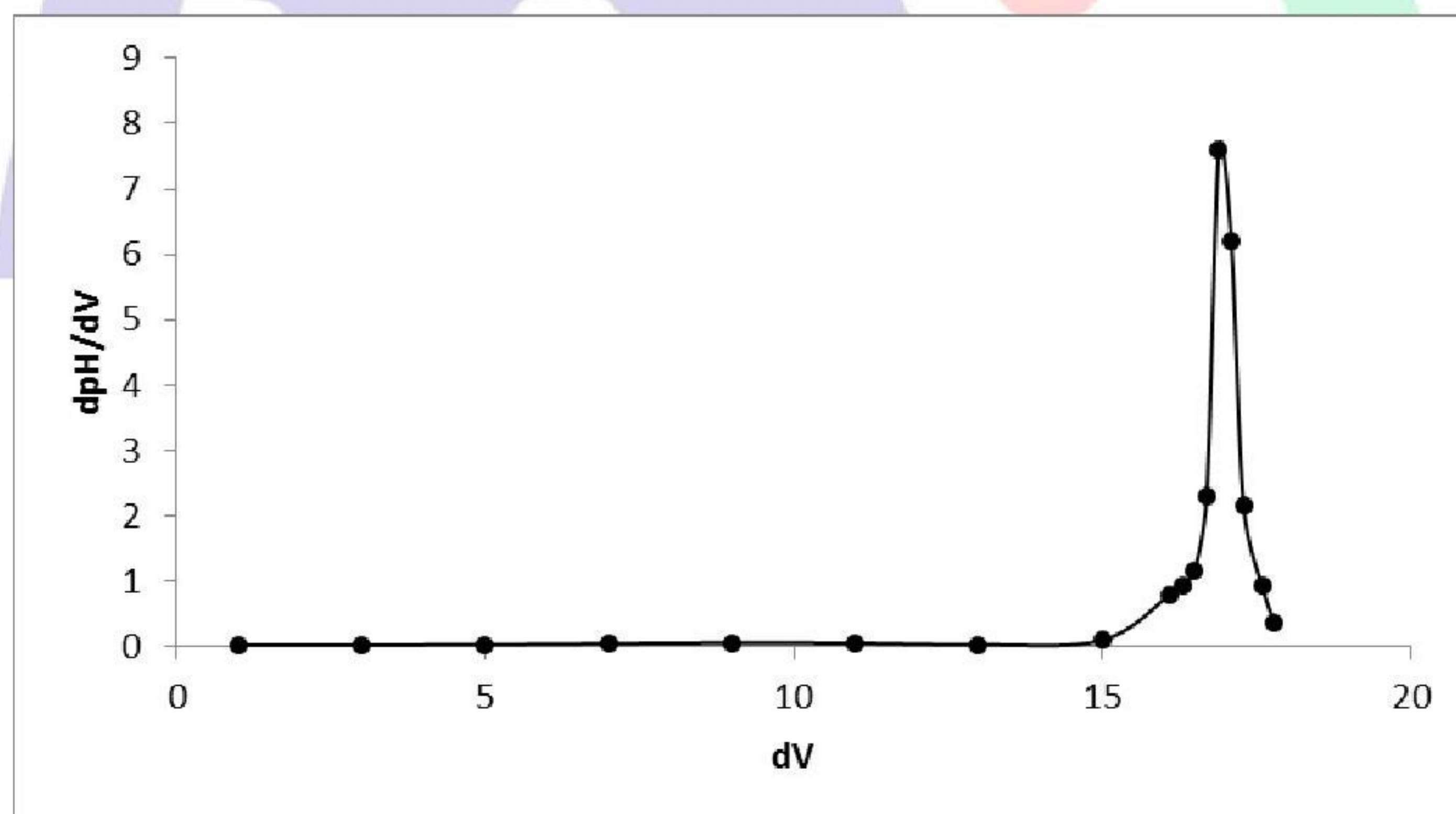
V<sub>2</sub> adalah volume HCl (mL).



**Lampiran B**  
(informatif)  
**Gambar kurva titrasi**



**Gambar B-1.** Kurva hubungan antara pH dan volume NaOH pada titrasi sampel



**Gambar B-2.** Kurva turunan pertama hubungan antara  $dpH/dV$  dan  $dV$  pada titrasi sampel



**Lampiran C**  
(informatif)  
**Hasil verifikasi metode**

**Data Verifikasi Derajat Deasetilasi Secara Potensiometri**

Verifikasi dilakukan dengan mempergunakan dua contoh, yaitu contoh kitosan I dengan derajat deasetilasi 85,62% dan kitosan II dengan derajat deasetilasi 92,03%. Penentuan derajat deasetilasi kitosan ini dilakukan dengan metode ASTM (*American Reference Standard Material*) F2260 mempergunakan teknik spektrometri *Proton Nuclear Magnetic Resonance* (1H-NMR). Hasil dari metode 1H-NMR ini selanjutnya dibandingkan dengan hasil dari analisis derajat deasetilasi secara potensiometri. Oleh karena contoh untuk 1H-NMR harus bebas proton senyawa air, maka analisis verifikasi dilakukan terhadap contoh kering sehingga faktor koreksi air (W) adalah 0%.

**C 1. Standardisasi Larutan Baku**

**1. Pembuatan larutan standar primer asamoksalat 0,2 N**

Bobot asam oksalat yang ditimbang = 1,2621 g

mol oksalat = massa/Mr

mol oksalat = 0,0100 mol

molaritas asam oksalat = mol/L = 0,1002 M

Normalitas asam oksalat = n.M = 0,2003 N ; (grek asam oksalat = 2)

**2. Standardisasi NaOH 0,1 N**

Ulangan	Volume NaOH (mL)	Volume asam oksalat (mL)	Konsentrasi asam oksalat (N)	Konsentrasi NaOH (N)
1	10	4,9	0,2003	0,0982
2	10	4,8	0,2003	0,0961
3	10	4,8	0,2003	0,0961
Rata-rata				0,0967
Standar Deviasi				0,0012
Akurasi				96,81%

**3. Standardisasi HCl 0,1 N menggunakan NaOH terstandar**

Ulangan	Volume HCl (mL)	Volume NaOH (mL)	Konsentrasi NaOH (N)	Konsentrasi HCl(N)
1	5	4.9	0,0967	0,0948
2	5	4.8	0,0967	0,0928
3	5	4.8	0,0967	0,0928
Rata-rata				0,0935
Standar Deviasi				0,0011
Akurasi				93,47%



## C 2. Contoh Perhitungan Kadar Air dari Kedua Sampel

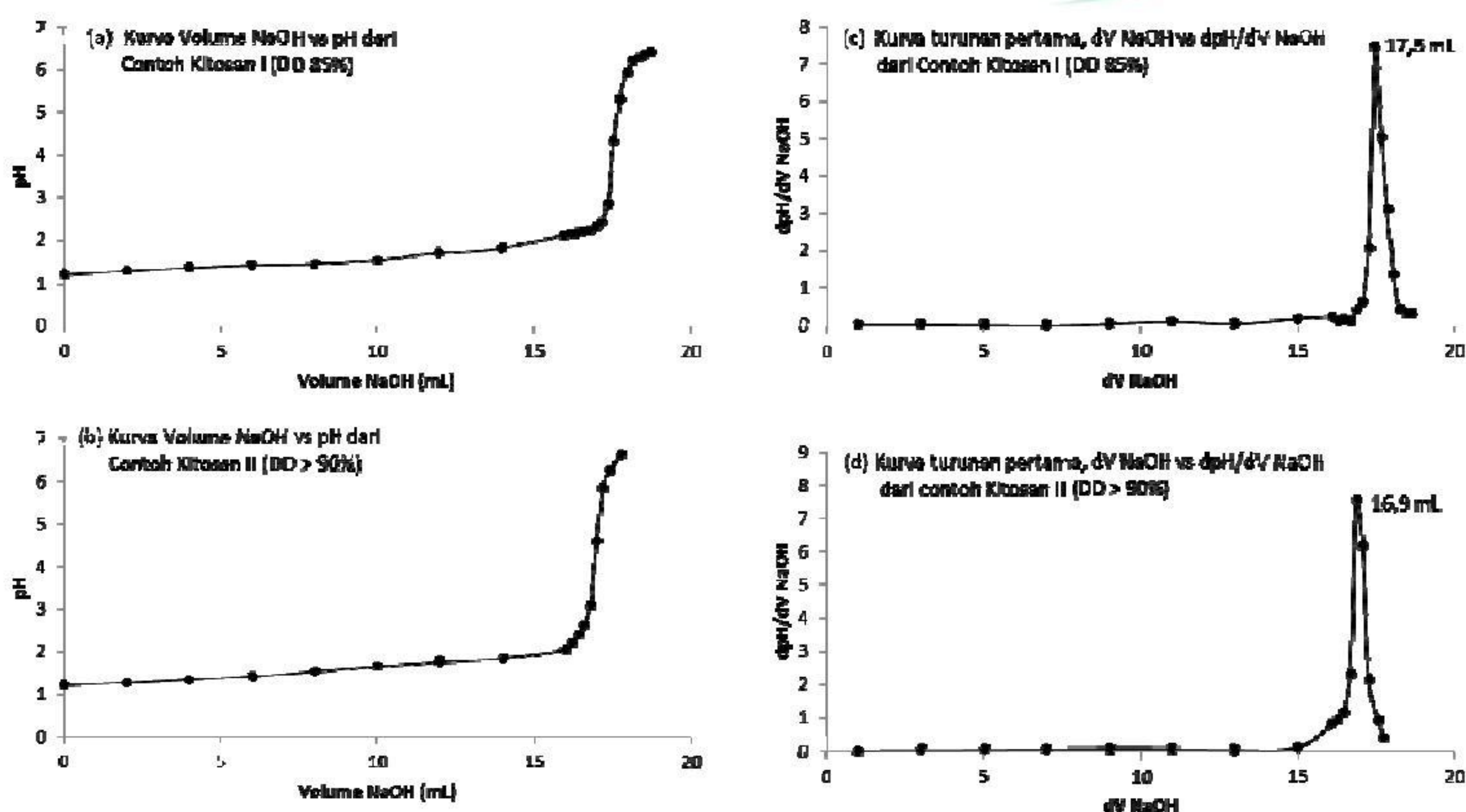
## Kadar Air Contoh Kitosan I (DD 85%)

Ulangan	kode cawan	bobot cawan (g)	bobot cawan + sampel (g)	bobot sampel (g)	cawan+sampel (akhir) (g)	bobot sampel akhir (g)	kadar air (%)
S1	a20	17,8588	18,8655	1,0067	18,7549	0,8961	0,11
S2	a6	21,7127	22,7295	1,0168	22,616	0,9033	0,11
S3	DD	18,0609	19,067	1,0061	18,9565	0,8956	0,11
Rata-rata							0,11
Standar deviasi							0,00

## Kadar Air Contoh Kitosan II (DD &gt; 90%)

Ulangan	kode cawan	bobot cawan (g)	bobot cawan + sampel (g)	bobot sampel (g)	cawan+sampel (akhir) (g)	bobot sampel akhir (g)	kadar air (%)
K1	a1	24,9058	25,9298	1,024	25,8647	0,9589	0,06
K2	24	26,3407	27,3597	1,019	27,2948	0,9541	0,06
K3	13	28,1363	29,1371	1,0008	29,073	0,9367	0,06
Rata-rata							0,06
Standar deviasi							0,00

## C 3. Penentuan Derajat Deasetilasi



Gambar C-1. Kurva dari titrasi dan turunan pertama pH vs volume NaOH dari Kitosan I (DD 85%) serta Kitosan II (DD &gt; 90%)



Hasil Uji Derajat Deasetilasi menggunakan HCl 0.0935 N dan NaOH 0.0967 N :

Contoh	Ulangan	Bobot Kering Sampel (g)	Volume NaOH (mL)	Derajat Deasetilasi (%)	
				Metode Potensiometri	Metode <sup>1</sup> H-NMR Pembanding
Kitosan I, dengan derajat deasetilasi 85%	1	0,1251	17,5	83,02	85,32
	2	0,1250	17,5	83,09	84,92
	3	0,1253	17,5	82,89	85,94
	4	0,1254	17,5	82,83	85,82
	5	0,1255	17,5	82,76	85,75
	6	0,1253	17,5	82,89	85,94
	7	0,1254	17,5	82,83	85,63
Kitosan II dengan derajat deasetilasi >90%	1	0,1252	16,9	90,49	92,14
	2	0,1251	16,9	90,42	92,41
	3	0,1252	16,9	90,20	91,89
	4	0,1255	16,9	90,49	91,99
	5	0,1251	16,9	90,42	91,90
	6	0,1252	16,9	90,56	91,85
	7	0,1250	16,9	90,49	92,03

Contoh	Rataan Derajat Deasetilasi	Standar Deviasi	RSD	Akurasi terhadap Metode Pembanding <sup>1</sup> H-NMR
Kitosan I, dengan derajat deasetilasi 85%	82.90	0.12	0.14%	96.83%
Kitosan II, dengan derajat deasetilasi >90%	90.44	0.12	0.13%	98.27%



## Bibliografi

BBP4BKP. 2014. Verifikasi Metode Analisis Derajat Deasetilasi Kitosan secara Potensiometri. Laboratorium Instrumen. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Jakarta. Indonesia. Disusun tanggal 20 – 23 Agustus 2014.

Czechowska-Biskup R, Jarosińska D, Rokita B, Ulański P, Rosiak MJ. 2012. Determination of degree of deacetylation of chitosan – comparison of methods. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*. 17:5-20

Yuan Y, Chesnutt BM, Haggard WO, Bumgardner JD. 2011. Deacetylation of Chitosan: Material Characterization and in vitro Evaluation via Albumin Adsorption and Pre-Osteoblastic Cell Cultures. *Materials*. 4: 1399-1416.

Raymond L, Morin FG, Marchessault RH. 1993. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR, *Carbohydr Res*. 246: 331-336.

